

Aus der Neurochirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg

Direktor: Professor Dr. W. Schiefer

**ERZEUGUNG UND TRANSPLANTATION NEUROGENER
SARKOME DER RATTE**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

dem Fachbereich Medizin

der Friedrich - Alexander - Universität

Erlangen - Nürnberg

vorgelegt

von

Horst Udo Engelmann

aus

Schkeuditz

1976 № 278



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546220_0063

Aus der Neurochirurgischen Klinik mit Poliklinik
der Universität Erlangen - Nürnberg

Direktor: Professor Dr. W. Schiefer

**ERZEUGUNG UND TRANSPLANTATION NEUROGENER
SARKOME DER RATTE**

INAUGURAL - DISSERTATION

zur Erlangung der Doktorwürde

dem Fachbereich Medizin

der Friedrich - Alexander - Universität

Erlangen - Nürnberg

vorgelegt

von

Horst Udo Engelmann

aus

Schkeuditz

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin der Universität
Erlangen-Nürnberg



Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. W. Schiefer

Tag der mündlichen Prüfung: 03. Mai 1976

Besonders danken möchte ich Herrn Professor Dr. W. Schiefer für die Überlassung des Themas und Herrn Dr. H. Waldbaur für die stets hilfreiche Beratung und unermüdliche Unterstützung bei der Ausführung der Arbeit.

INHALTSVERZEICHNIS

EINLEITUNG

TEIL A LITERATUR UND GRUNDLAGEN

I Methoden zur Erzeugung von Geschwülsten des
Nervensystems

1. Ionisierende Strahlen
2. Viren
3. Chemische Stoffe
 - a) Aromatische Kohlenwasserstoffe
 - b) Fluorenylacetamid
 - c) N-Nitrosoverbindungen

II Morphologie der chemisch induzierten Tumoren

III Transplantation von Tumoren des Nervensystems

TEIL B EIGENE VERSUCHE

I Problemstellung

II Versuchsserien

III Material und Methode

IV Ergebnisse

1. Erzeugung von Tumoren der Ratte durch einmalige
subcutane Injektion von ÄthylNitrosoharnstoff
2. Transplantation der erzeugten Tumoren
 - a) Subcutane Transplantationen
 - b) Intracerebrale Transplantationen
 - c) Sekundär intracerebrale Transplantationen
 - d) Zusammenfassung der Befunde

TEIL C DISKUSSION

I Diskussion der Versuche zur Erzeugung von Tumoren

II Diskussion der Transplantationsversuche

ZUSAMMENFASSUNG

LITERATURVERZEICHNIS

EINLEITUNG

In der experimentellen Neuroonkologie ist ein Tumormodell, welches den Verhältnissen beim Menschen möglichst nahekommt, von großem Interesse.

Bis vor kurzem wurde vor allem mit einem transplantablen Ependymoblastom der Maus gearbeitet, welches ursprünglich durch Methylcholanthren erzeugt wurde (Zimmermann und Arnold, 1941). Ependymoblastome kommen jedoch beim Menschen nicht häufig vor, so daß Versuche an diesem Modell nur eine beschränkte Aussagekraft haben (Schmidek und Mitarb., 1971). Außerdem bietet die Maus nicht so günstige Versuchsbedingungen wie etwa die Ratte (Kirsch und Mitarb., 1972). Daher wurde in den letzten Jahren den bei der Ratte durch N-Nitrosoverbindungen erzeugten Tumoren eine hohe Aufmerksamkeit zuteil.

Diese Tumoren erfüllen weitgehend die Bedingungen, die an ein Tumormodell gestellt werden, und zudem sind N-Nitrosoverbindungen in der menschlichen Umwelt anzutreffen.

Über die Transplantation dieser Tumoren wurde bisher noch wenig berichtet. Insbesondere über die durch Äthylnitrosoharnstoff erzeugten Transplantationstumoren sind die Kenntnisse noch lückenhaft.

TEIL A

LITERATUR UND GRUNDLAGEN

I Methoden zur Erzeugung von Geschwülsten des Nervensystems

1. Ionisierende Strahlen

Die Methode, durch ionisierende Strahlen Tumoren des Zentralnervensystems (ZNS) zu erzeugen, wurde von Jentzer (1959), Dimant und Mitarb. (1965), Perese und Moore (1960) und anderen angegeben. Sie ist allerdings durch lange Latenzzeiten und niedrige Tumorraten belastet. Darüber hinaus lassen die genannten Arbeiten eine genaue Dokumentation durch Abbildungen und histologische Beschreibungen vermissen.

2. Viren

Erfolgversprechender sind die Versuche, durch bestimmte Viren Geschwülste des ZNS zu erzeugen. Zunächst wurde die Möglichkeit von Vaquez-Lopez (1936) an Hühnern aufgezeigt. Es wurden aber bald auch andere Laboratoriumstiere wie Hamster (Huebner und Mitarb., 1962), Kaninchen (Rabotti und Mitarb., 1966) und Hunde (Rabotti und Mitarb., 1966) erfolgreich mit onkogenen Viren beimpft.

3. Chemische Stoffe

a) Aromatische Kohlenwasserstoffe

Von dieser Gruppe chemischer Verbindungen sind es vorwiegend Methylcholanthren, Benzpyren und Dibenzanthrazen, welche zur Erzeugung von Neubildungen des Nervensystems verwendet wurden. Selig-

man und Shear (1939) implantierten Methylcholanthren-Pellets bei Mäusen in das Gehirn. Die Applikationsart wurde variiert, so injizierte Rosner (1960) eine wässrige Suspension intracerebral, Tansley und Wilson (1947) benutzten Methylcholanthren-Puder, andere Untersucher gaben bei der Herstellung der Pellets noch andere Stoffe wie Cholesterin (Kirsch, 1961) oder Paraffin (Mulligan und Mitarb., 1946) zu. Immer jedoch wurde die Substanz ins Gehirn appliziert und entfaltete an der Stelle der Applikation ihre karzinogene Wirkung.

Zimmermann und Arnold (1941) implantierten bei 103 C₃H-Mäusen Methylcholanthren-Pellets in die Meningen, das Cerebrum und Cerebellum und erhielten nach Latenzzeiten von durchschnittlich 195 Tagen (Sarkome) und 279 Tagen (Gliome) 48 Tumoren von verschiedenem histologischem Bild. Caputo und Giovanella (1955) führten Versuche mit Ratten durch, wobei sie ähnlich hohe Tumorausbeuten erhielten. Jänisch und Schreiber (1969) geben für ihre Versuche wesentlich geringere Tumorausbeuten an; sie erhielten bei 64 auswertbaren Versuchen nur 5 induzierte Tumoren. Sie verwendeten Methylcholanthren als Agens und Ratten als Versuchstiere.

Die Tumorausbeute ist offenbar abhängig von der verwendeten Inzuchtrasse. Sie schwankte bei Ratten nach Angaben von Jänisch und Schreiber (1969) um 20 %. Vergleichende Untersuchungen stellten auch Ishida und Mitarb. (1963) an. Von ihnen ließ sich bei 54 Wistarratten kein Hirntumor erzeugen, bei 158 Donrui-Ratten traten jedoch 24 Hirntumoren auf. Die durchschnittlichen Latenzzeiten wurden von Jänisch und Schreiber (1969) in einer Zusammenstellung von Versuchsergebnissen verschiedener Autoren für Rattengliome mit 251 bis 299 Tagen, für Sarkome mit 282 bis 386 Tagen angegeben.

Versuche mit Benzpyren und Dibenzanthrazen als Agentien und Ratten als Versuchstieren führten Caputo und Giovanella 1955 durch. Es

ergaben sich bei 43 Ratten 15 Tumoren durch Benzpyren und bei 38 Ratten 3 Tumoren durch Dibenzanthrazen. Jänisch und Schreiber (1969) betonten hingegen die gute Wirksamkeit von 6,9,10-Trimethyl-1,2-Benzanthrazen bei Ratten. Bei 91 auswertbaren Versuchen wurden 66 Tumoren beobachtet, was einer Tumorrates von 73 % entspricht.

b) Fluorenylacetamid

Lopez (1945) mischte N-2-Fluorenylacetamid dem Futter von 12 Ratten bei. Bei einem Tier trat ein Glioblastom auf. Auch mit anderen Stoffen wurde noch versucht, Geschwülste des Nervensystems hervorzurufen, jedoch konnten all diese Versuchsanordnungen keine große Bedeutung erlangen. Sie wiesen den Nachteil einer zu geringen Tumorausbeute auf. Manchmal gelang die Tumorerzeugung nur in Einzelfällen. Damit schieden die Methoden als Modelle zur systematischen Untersuchung von Geschwülsten des Nervensystems aus. Dies gilt nicht für die virale Erzeugung und die Erzeugung durch Methylcholanthren, da hier die Tumorausbeute genügend hoch ist. Jedoch setzen diese Methoden eine traumatische Läsion voraus, die nicht wünschenswert ist.

c) N-Nitrosoverbindungen

Einen wesentlichen Fortschritt konnten Druckrey und Mitarb. erzielen. Mit ihrer Methode der Resorptivkanzerogenese konnten sie Tumoren des Nervensystems selektiv und in sehr hoher Ausbeute erzeugen.

Nach Gabe einer einmaligen Dosis von 70 bzw. 100 mg/kg Körpergewicht Methylnitrosoharnstoff (MNH) fanden Druckrey und Mitarb. (1964) eine hohe Anzahl von Tumoren in verschiedenen Organen. Bei wiederholter Gabe kleiner Dosen (5 - 12,5 mg/kg) derselben Substanz konnten ausgeprägte organotrope Effekte festgestellt werden:

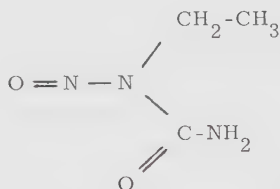
Es wurden ausschließlich Tumoren des ZNS erzeugt (Druckrey und Preussmann, 1964; Druckrey und Mitarb., 1965). Methylnitrosourethan hingegen, welches die gleiche Wirkform, nämlich Diazomethan, besitzt, erzeugt nur Tumoren der Lunge (Druckrey und Mitarb., 1962). Jänisch und Mitarb. (1967) konnten zeigen, daß sich das Spektrum der erzeugten Tumoren bei höheren Dosen verschiebt. Bei einer Dosis von 10 mg/kg Körpergewicht alle 14 Tage konnten sie ganz überwiegend ZNS-Tumoren erzeugen, bei einer Dosis von 25 mg/kg alle 4 Wochen nahmen die Körpertumoren signifikant zu, und bei einer einmaligen Dosis von 70 mg/kg überwogen schließlich die Körpertumoren.

Auf die Dosisabhängigkeit der Organotropie karzinogener Substanzen weist auch Druckrey (1972) hin. Er erklärt dieses Verhalten mit einem "Überangebot von Karzinogen, welches die Kapazität des primären Zielorgans zur karzinogenen Antwort übersteigt".

Von Druckrey und Mitarb. (1965) wurde die Ansicht vertreten, daß bei entsprechenden Versuchsbedingungen (niedrige Karzinogendosis) MNH ausschließlich Tumoren des ZNS erzeugt. Güthert und Mitarb., (1968) konnten anhand ihrer Versuche mit Haubenratten und Wistar-Ratten zeigen, daß MNH in etwa 17,6 % der Fälle auch Nerventumoren, also Tumoren des peripheren Nervensystems erzeugt. Die verschiedenen Tierstämme mit möglicherweise differenter Empfindlichkeit in Bezug auf das Karzinogen wurden als Ursache für diese abweichenden Ergebnisse diskutiert. Die Wirkungen von MNH auf das Nervensystem wurden im Gefolge von anderen Untersuchern bei Variationen der Versuchsbedingungen bestätigt (Stroobandt und Brucher, 1968; Schreiber und Jänisch, 1967; Thomas und Mitarb., 1964; Waldbaur und Mitarb., 1974; Zülch und Mennel, 1971).

Ivankovic und Mitarb. (1965) untersuchten, angeregt durch die unterschiedliche Organotropie von MNH und Methylnitrosourethan bei glei-

cher Wirkgruppe, die Wirkung von Trimethylnitrosoharnstoff auf das Nervensystem bei BD-Ratten. Es ließ sich eine eindeutige Verschiebung der Wirkung in Richtung auf das periphere Nervensystem feststellen. Druckrey und Mitarb. (1967) testeten 65 verschiedene N-Nitrosoverbindungen auf ihre onkogene Wirkung, darunter auch Äthyl-nitrosoharnstoff (ÄNH).



ÄNH ist eine kristalline Substanz mit einem Schmelzpunkt von 103 - 104°C. Sie ist instabil und wird in wäßriger Lösung heterolytisch gespalten. Die Halbwertszeit beträgt bei pH 8 0,1 Std., bei pH 7 1,5 Std. und bei pH 6 31 Std. (Ivankovic und Druckrey, 1968). Es wird für Versuche zur Tumorerzeugung eine Pufferung mit Zitronensäure auf einen pH von etwa 4,5 empfohlen, andere Autoren verwenden Ascorbinsäure zur pH-Einstellung. Die LD₅₀ beträgt für erwachsene Ratten 240 mg/kg.

Ivankovic und Mitarb. (1966) verabreichten 39 schwangeren Ratten des Inzucht-Stammes BD IX am 15. Tag der Schwangerschaft eine einmalige Injektion ÄNH in verschiedener Dosierung. Bei den Nachkommen erhielten sie eine hohe Anzahl von neurogenen Tumoren.

Druckrey und Mitarb. (1966) beobachteten bei den Nachkommen von 3 Ratten, die am 15. Tag ihrer Schwangerschaft ÄNH erhalten hatten, sowohl teratogene als auch karzinogene Effekte. Ivankovic und Druckrey (1968) untersuchten daraufhin die Wirkung von ÄNH, schwangeren Ratten verabreicht, noch genauer. Sie konnten selbst bei einer einmaligen Dosis von 5 mg/kg eine Tumorausbeute von 63 % beobach-

ten. Die Empfindlichkeit des Nervensystems ist während der pränatalen Entwicklung etwa 50 Mal größer als bei erwachsenen Ratten (Schagen, 1970). Druckrey und Mitarb. (1970) bestätigten die Ergebnisse auch für andere Inzuchtstämme. Sie konnten beobachten, daß die Rattenstämme unterschiedliche Empfindlichkeiten gegenüber dem Karzinogen aufwiesen. Alexandrov (1969) und auch Jänisch und Mitarb. (1972) verglichen die Wirksamkeit von ÄNH und MNH bei der transplacentaren Induktion von Geschwülsten des Nervensystems. Druckrey und Mitarb. (1970) untersuchten die Wirkung von ÄNH auf neugeborene und junge Ratten. Es zeigte sich, daß - wie oben erwähnt - die Empfindlichkeit der Ratten für das Karzinogen mit steigendem Lebensalter schnell abnahm. Gleichzeitig nahm die Zahl der Nephroblastome, d. h. der extraneuralen Tumoren, zu. ÄNH wirkt auch am peripheren Nervensystem stark karzinogen. Eine relativ hohe Anzahl von Geschwülsten betraf den N. trigeminus.

Die Methode, neurogene Tumoren auf dem Wege der Resorptivkanzerogenese zu erzeugen, die zunächst an Ratten aufgezeigt wurde, ist inzwischen auch bei anderen Tieren angewandt worden. So induzierten Jänisch und Schreiber (1967) mit MNH Hirngeschwülste bei Kaninchen und Warzok und Mitarb. (1970) bei Hunden. Bei Rhesusaffen konnten mit MNH bisher keine Tumoren erzeugt werden. Beim Meerschweinchen verursachte MNH - oral verabreicht - ebenfalls keine Tumoren des Nervensystems sondern Magen- und Pankreaskrebse.

Zweifellos ist die Methode der Resorptivkanzerogenese mit neurotrophen kanzerogenen Substanzen für bestimmte Versuchstiere wie Ratten oder Kaninchen die zur Zeit sicherste Methode, neurogene Tumoren zu erzeugen. Parallelen zur menschlichen Hirntumorentstehung wurden diskutiert, da N-Nitrosoverbindungen in der menschlichen Umwelt vorkommen (Maggee und Barnes, 1967) und unter anderem in der chemischen Industrie verwendet werden.

II Morphologie der chemisch induzierten Tumoren

Tumoren, die durch aromatische Kohlenwasserstoffe induziert werden, entwickeln sich in der unmittelbaren Nachbarschaft des implantierten Pellets. Wenn der Tumor auch nicht immer auf die Implantationsstelle begrenzt bleibt, so wächst er doch kontinuierlich vom Pellet her in andere Hirnteile ein. Rückenmarkstumoren sowie Abtropfmetastasen auf dem Liquorwege wurden nicht beobachtet. Dagegen kommt es häufiger zu ausgedehntem extracerebralem Wachstum (Zimmermann und Arnold, 1941), sei es dadurch, daß der Tumor sich von der Pelletloge her flächenhaft unter der Schädelkalotte ausbreitet, oder dadurch, daß winzige Partikel des Kanzerogens bei der Implantation an den Meningen abgestreift werden. Bei schnell wachsenden Tumoren kommt es zu extrakraniellm Wachstum, bevor sich die Knochenlücke, die bei der Implantation erzeugt wurde, schließen kann. Solche Tumoren sind mitunter schon palpabel, bevor sich ausgeprägte klinische Symptome bemerkbar machen.

Bei der Induktion von Tumoren mit Nitrosoharnstoffen entstehen die Geschwülste an den unterschiedlichsten Stellen. Die Tumoren zeigen jedoch in Abhängigkeit von dem Stoff, durch den sie erzeugt wurden, gewisse Präferenzen.

So konnten mit MNH mehr Tumoren des ZNS erzeugt werden als mit ÄNH, welches bevorzugt Tumoren des peripheren Nervensystems erzeugt. Jänisch und Schreiber (1969) vertreten die Ansicht, daß sich eine Gesetzmäßigkeit bezüglich des Ausgangspunktes nicht feststellen lasse. Druckrey (1972) weist hingegen auf bevorzugte Sitze hin: So solle im Gehirn das ventrikuläre Ependym und das umgebende subependymäre Marklager bevorzugt sein. Auf die Bedeutung der subependymären Zell-Platte im Hinblick auf die Tumorentstehung beim Menschen wiesen schon Globus und Kühlenbeck (1944) hin. Smart

(1961) untersuchte das subependymäre Gewebe bei Mäusen autoradiographisch und fand, daß es auch bei erwachsenen Tieren noch eine Zellteilungsaktivität besitzt. Die Tumoren können multizentrisch entstehen, wobei die Tumoren eines Tieres bei der Sektion unterschiedliche Stadien aufweisen können. Sie machen sich im Großhirn häufig durch ausgeprägte Mittellinienverschiebungen bemerkbar und können in die Ventrikel einwachsen. Im Rückenmark soll die Pars posterior bevorzugt sein. Über Stifogliome des Rückenmarkes ist berichtet worden (Ivankovic und Druckrey, 1968). Tumoren des Plexus lumbosacralis können beträchtliche Größen erreichen (bis Pflaumengröße). Auch abdominelle Tumoren neurogenen Ursprungs machen sich durch eine abdominelle Schwellung bemerkbar. Tumoren des Trigeminus, wie sie bei ÄNH häufig beobachtet werden, können unter Knochenzerstörung in die Orbita und Nasenhöhle einwachsen (Druckrey und Mitarb., 1970).

Die histologische Klassifizierung der durch chemische Agentien induzierten Tumoren orientiert sich weitgehend an den aus der Humanpathologie geläufigen Begriffen. So beschreiben Zimmermann und Arnold (1941) bei ihrem Tumor-Material (durch Methylcholanthren erzeugte Mäusetumoren) Gliome, Sarkome und sarkomatös-gliöse Mischtumoren, wobei unter den Gliomen Glioblastome und Oligodendrogliome besonders häufig auftraten. B. Schiefer (1962) vertritt die Ansicht, daß zwar die experimentell erzeugten Tumoren nicht immer mit menschlichen Hirntumoren verglichen werden können, aber eine Klassifikation gemäß der von Zülch (1956) gegebenen Einteilung grundsätzlich möglich ist. Allerdings seien diese experimentell erzeugten Geschwülste grundsätzlich maligner als spontane menschliche Hirntumoren. So konnte er auffallend viele Mitosen, eine Vielfalt der Zellen und Stromareaktionen beobachten (B. Schiefer, 1961). Netsky (1964) weist darauf hin, daß man aus dem ähnlichen histologischen Bild nicht ohne weiteres auf ein ähnliches biologisches Verhal-

ten schließen kann.

Thomas und Kersting (1964) haben die durch MNH erzeugten Hirntumoren der Ratte histologisch untersucht. Sie unterteilten in iso- und polymorphe Gliome sowie in Mischgeschwülste, bei denen es sich um polymorphe Gliome mit einem zentralen sarkomatösen Geschwulstknoten handelte. Die polymorphen Gliome glichen weitgehend dem Bild des menschlichen Glioblastoma multiforme. Jänisch und Schreiber (1969) lehnen eine neue Terminologie für experimentelle Hirntumoren ab und verwenden Begriffe aus der Humanpathologie. Zülch und Mennel (1971) haben 1731 experimentell erzeugte Tumoren untersucht und klassifiziert. Dieses umfangreiche Material stammte aus den Versuchen der Arbeitsgruppe um Druckrey sowie aus eigenen Versuchen. Auch sie wenden Prinzipien aus der Humanpathologie an (Zülch und Wechsler, 1968; Zülch, 1971), wie sie im Grunde auf Bailey und Cushing zurückgehen. Sie beschreiben unter anderem auch Mischgliome, die aus Zellen des Oligodendrogli- und Astroglia-Typs in bunter Mischung bestehen. Die genannten Autoren erzeugten auch polymorphe Gliome, typische Glioblastome wurden jedoch nur in Ausnahmefällen diagnostiziert. Hierin liegt ein gewisser Gegensatz zu den Befunden von Thomas und Kersting.

Kleihues und Mitarb. (1968), die mit ÄNH bei Ratten erzeugte Tumoren histologisch untersucht haben, wenden ebenfalls die von K. J. Zülch erarbeiteten Richtlinien an. Sie teilen die bei ÄNH häufig vorkommenden Tumoren des peripheren Nervensystems zytopathologisch in drei Gruppen ein: Maligne Neurinome mit hohem Differenzierungsgrad, maligne Neurinome mit geringem Differenzierungsgrad und undifferenzierte maligne Neurinome.

III Transplantation von Tumoren des Nervensystems

Da spontane Hirntumoren bei Tieren und besonders bei Laboratoriumsnagetieren selten sind (Guerin, 1954) und als Modelle für menschliche Hirntumoren nicht in Betracht kommen, wurden Hirntumoren vielfach transplantiert.

Greene (1953) führte heterologe intracerebrale Transplantationen von menschlichen Hirngeschwülsten vor allem auf Meerschweinchen durch. Menschliches Tumorgewebe findet jedoch in Tiergehirnen schlechte Wachstumsbedingungen, wenn sich auch die Angehrten durch immun-suppressive Behandlung wie Röntgen-Ganzkörperbestrahlung oder Kortikoid-Behandlung verbessern lassen (Toolan, 1954; Jablonovska-ja, 1967).

Schmidt und Mitarb. (1968) untersuchten die Frage der Wachstumsbedingungen von menschlichem Hirntumorgewebe an 230 Goldhamstern genauer. Sie kamen zu dem Schluß, daß mesenchymale Abwehrreaktionen des Empfängerorganismus in den Liquorräumen stärker sind als im Hirngewebe selbst, daß aber beim Ausbleiben dieser Abwehrreaktionen die Wachstumsbedingungen im Liquor günstiger sind als im Hirngewebe. Sie konnten in ihren Versuchen diese Abwehrreaktionen zwar durch eine Kortikoidbehandlung vermindern, aber kein dauerndes Wachstum der Transplantate erreichen.

Bessere Ergebnisse ergaben sich bei homologen oder isologen Transplantationen. Bereits Zimmermann und Arnold (1941) transplantierten ihre mit Methylcholanthren induzierten Hirngeschwülste subcutan auf Mäuse derselben Inzuchtlinie (C_3H -Mäuse). Sie gaben an, daß sich sogenannte Mischtumoren auf diese Weise in ihre Komponenten zerlegen lassen. Sie führten eine Angehrate für transplantierte Tumoren nicht gesondert an, bemerkten aber, daß die Gliom-Transplan-

tate leicht anwuchsen.

Auch Seligman und Shear (1939) transplantierten ein mit Methylcholanthren induziertes Mäusegliom weiter. Sie stellten fest, daß das Transplantat mehr Mitosen aufwies als der Primärtumor. Perese und Moore (1960) erzeugten bei C_3H -Mäusen und anderen Inzuchtlinien durch Methylcholanthren Hirntumoren, die sie sowohl intrakraniell als auch subcutan über bis zu 31 Generationen weiterverimpften. Ihre Glioblastome änderten, subcutan transplantiert, ihr histologisches Bild zu sarkomatösen Geschwülsten, die, da sie noch Reste gliösen Gewebes enthielten, nach Retransplantation in das Gehirn zu Ependymomen auswuchsen. Die durch aromatische Kohlenwasserstoffe induzierten Tumoren wurden als Hirntumormodelle zu weiteren Untersuchungen verwendet. Ausman und Mitarb. (1970) benutzten für chemotherapeutische Studien an experimentellen Hirntumoren Mäuseependymome, die von Seligman und Shear (1939), Zimmermann und Arnold (1941) und Sugiura (1969) induziert worden waren. Shapiro (1970 und 1972) hat dieses Hirntumormodell, welches durch seine hohen Angehraten und durch die konstante Überlebenszeit der Tiere besticht, noch für weitere Untersuchungen verwendet.

Erst in letzter Zeit wurden Versuche unternommen, Tumoren, die durch Nitrosamide induziert worden waren, zu transplantieren. Lee (1968) transplantierte Tumoren, die er bei Sprague-Dawley-Ratten durch MNH induziert hatte. Die Transplantate zeigten zwar zunächst dieselben morphologischen Charakteristika. Bei weiteren Passagen traten jedoch anaplastische Veränderungen auf. Lee (1973) erreichte Angehraten der Transplantate von etwa 45 %.

Schmidek und Mitarb. (1971) induzierten ebenfalls durch MNH gliöse Tumoren bei Ratten. Sie transplantierten die erhaltenen Tumoren entweder direkt oder ließen die Tumoren in einer Gewebekultur wachsen, um sie dann subcutan zu transplantieren. Auch Benda und Mitarb. (1971) ließen die Tumoren, die sie durch MNH erzeugt hatten, zu-

nächst in einer Gewebekultur wachsen und transplantierten anschließend auf Ratten. Diejenigen Tumoren, welche aus Zellklonen hervorgingen, behielten ihr histologisches Bild besonders lange bei. Den letztgenannten Autoren gelang die direkte Transplantation der Pri-märtumoren von Tier zu Tier (ohne Verwendung von Gewebekultur) nur in Ausnahmefällen. Eine fortlaufende Transplantation über mehrere Passagen gelang ihnen nicht.

Thust und Warzok (1972) untersuchten Zellklone mehrerer nitrosamid-induzierter Rattentumoren *in vitro* und anschließend nach isologer intracerebraler Transplantation auch *in vivo*.

Wechsler und Mitarb. (1972) transplantierten subcutan Tumoren des zentralen und peripheren Nervensystems, die sie durch ÄNH bei BD IX- und CD-Fischer-Ratten erzeugt hatten. Die Tumoren des zentralen Nervensystems zeigten bereits in den ersten Passagen eine sarkomatöse Umwandlung, während die Tumoren des peripheren Nervensystems ihr histologisches Bild beibehielten.

Ridley und Mitarb. (1973) transplantierten durch ÄNH induzierte Schwannome bei Harvard-Ratten sowohl subcutan als auch intracerebral. Bei intracerebraler Übertragung ergaben sich bessere Angehraten als bei subcutaner, ferner waren die Ergebnisse bei neugeborenen Tieren besser als bei erwachsenen.

TEIL B

EIGENE VERSUCHE

I Problemstellung

In den vorausgegangenen Kapiteln (siehe insbesondere Abschnitt A I 3. c)) wurde dargelegt, daß mit N-Nitrosoverbindungen neurogene Tumoren auf dem Wege der Resorptivkanzerogenese erzeugt werden können. Im wesentlichen handelt es sich dabei um folgende Methoden, wobei vor allem die Ratte als Versuchstier verwendet wurde:

1. Chronische Applikation von MNH bei erwachsenen Tieren
2. Diaplazentare Tumorerzeugung durch intravenöse Injektion von ÄNH bei schwangeren Ratten
3. Subcutane Injektion von ÄNH bei neugeborenen oder jungen Ratten.

In Abhängigkeit von Substanz, Applikationsart, Dosis und Alter der Tiere ergeben sich unterschiedliche Ergebnisse hinsichtlich Lokalisation der Geschwülste und Tumorspektrum (Zülch und Mennel, 1971).

Abgesehen von der ausführlichen Arbeit von Druckrey, Schagen und Ivankovic (1970) liegen kaum Berichte über die letztgenannte Methode, d. h. die Tumorerzeugung durch einmalige subcutane Injektion an neugeborenen oder jungen Ratten, vor.

Ein Ziel unserer Untersuchungen war daher, neues experimentelles Material mit dieser Methode zu gewinnen.

Auch über die Transplantation dieser Tumoren ist noch wenig berichtet worden. Andererseits sind entsprechende Transplantationstumoren von großem Interesse, da sie bei Erfüllung bestimmter Voraus-

setzungen Modelle für verschiedenartige Untersuchungen (z. B. chemotherapeutische, biochemische, immunologische Experimente) darstellen können.

In diesem Zusammenhang sind vor allem die Angehrate, das histologische Bild und die Angehzeit der Transplantationstumoren von Bedeutung.

Da die Experimente von Perese und Moore (1960) auf eine Abhängigkeit des histologischen Bildes vom Transplantationsort hinwiesen, wählten wir die unter II aufgeführten Versuchsanordnungen.

II Versuchsserien

1. Erzeugung von Tumoren der Ratte durch einmalige subcutane Injektion von Äthylnitrosoharnstoff.
2. Transplantation der erzeugten Tumoren
 - a) Subcutan
 - b) Intracerebral
 - c) Sekundär intracerebral

III Material und Methode

Wir verwendeten Ratten als Versuchstiere. Ratten stellen einen guten Kompromiß zwischen Kosten und Unterbringungsmöglichkeiten einerseits und den experimentellen Möglichkeiten andererseits dar. So sind zum Beispiel bei ihnen die Möglichkeiten einer Carotisinjektion oder einer intrathekalen Injektion gegeben. Das Gehirn einer Ratte ist mehrere Male größer als das einer Maus und erlaubt so eine wesentlich bessere Platzierung von Tumorstücken bei der Transplantation. Auch ist die Methode der Resorptivkanzerogenese speziell bei Ratten gut gesichert.

Wir wählten BD IX-Ratten⁺⁾ , einen Inzuchtstamm, um eine höhere Sicherheit beim Angehen der Transplantate zu haben.

Die für unsere Versuche erforderlichen Tiere züchteten wir selbst. Sobald bei einem Weibchen Zeichen des Östrus festzustellen waren, wurde es zum Bock gesetzt. Wenn die Trächtigkeit deutlich festzustellen war (Dickgehen des Weibchens), wurden Bock und Weibchen voneinander getrennt. Im Interesse einer gesunden Aufzucht wurden die Würfe auf 13 Jungtiere begrenzt. Die Jungtiere wurden etwa am 25. - 28. Tag p. p. von der Mutter getrennt.

Als Futter verwendeten wir Altromin und Wasser ad libitum. Einmal wöchentlich fütterten wir Salat und Karotten sowie trockenes Brot zu. Gelegentlich auftretende Atemwegsinfekte behandelten wir mit Tetracyclin.

Äthylnitrosoharnstoff wurde im Chemischen Institut der Universität

+) Zuchttiere dieses Rattenstammes überließ uns Prof. Dr. Druckrey, Freiburg, dem wir sehr zu Dank verpflichtet sind.

Erlangen-Nürnberg synthetisiert⁺⁾ . Wir stellten eine Lösung des ÄNH in physiologischer Kochsalzlösung her und pufferten mit NaH_2PO_4 auf einen pH von etwa 4,5. Die Lösung wurde etwa eine halbe Stunde nach der Zubereitung verwendet. Wir spritzten 8 Tage alten Ratten 80 mg/kg subcutan unter eine Falte der Rückenhaut. Wir verwendeten dazu Einmal-Insulinspritzen der Firma Brunswick. Um zu vermeiden, daß die Jungtiere nach der Injektion vom Muttertier nicht mehr angenommen wurden, zogen wir Gummihandschuhe an und streiften die Jungtiere nach der Injektion über die Genitalregion des Muttertieres.

Sobald aufgrund der in etwa bekannten Induktionszeiten mit dem Auftreten von Tumoren gerechnet werden mußte, wurden die Tiere täglich kontrolliert. Tumortragende Tiere fielen durch charakteristische klinische Symptome auf, die abhängig vom Sitz des Tumors waren. So zeigten sich Hirntumoren an der Apathie und gekrümmten Haltung der Tiere. Trigemintumoren imponierten durch Ausfall des Cornealreflexes und Schiefhaltung des Kopfes. Bei spinalen Tumoren traten Paraparesen und Blasenlähmungen auf, und Tumoren des Bauchraumes ließen sich schließlich durch abdominale Anschwellung diagnostizieren. Selbstverstümmelungen, wie sie präfinal vorkommen sollen (Druckrey und Mitarb., 1965), wurden in unserem Material nicht gesehen.

Wir präparierten die Tiere in Nembutal^R-Narkose. Den Tieren wurde 1 ml Vetren^R i. v. gespritzt. Die Injektion erfolgte in eine der Schwanzvenen nach Anwärmen des Schwanzes in warmem Wasser (40° C). Zur Blutstauung verwendeten wir eine Wäscheklammer. Handelsübliche Impfkäfige leisteten uns gute Dienste. Anschließend entbluteten wir die Tiere aus der Vena cava inferior, nachdem der

+) Für die Herstellung danken wir Dr. Baudisch.

Bauchraum durch einen medianen Längsschnitt eröffnet worden war. Bei besonderen Fragestellungen unterbanden wir anschließend die Aorta descendens und injizierten 8 % Formaldehydlösung in die Vena cava inferior, um die Fixation des Gewebes schon vom Gefäßraum her einzuleiten. Die nachfolgende Tumorpräparation richtete sich nach dem zu erwartendem Tumor. Bei Hirntumoren und Tumoren des Nervus trigeminus entfernten wir zunächst die Haut des Kopfes, durchtrennten die Nackenmuskulatur und entfernten dann, vom Foramen occipitale magnum ausgehend, mit der Luer'schen Zange das Schädeldach. Nach der Durchtrennung des Halsmarkes sowie der Hirnnerven wurde das Gehirn herausgenommen. Bei Trigemintumoren stellten wir zunächst die Nervi trigemini im Oberkieferbereich dar, bevor wir das Gehirn präparierten. Der N. trigeminus wurde beiderseits durch das Foramen ovale durchgezogen. Zur Präparation des Rückenmarkes eröffneten wir nach Entfernung der Haut und der paravertebralen Muskulatur den Spinalkanal durch Laminektomie mittels einer geraden, spitzen, kräftigen Schere. Tumoren des Bauchraumes imponierten bereits beim Entbluten, eine Schilderung der Präparation erübrigt sich.

Für die feingewebliche Untersuchung wurde das Gewebe in 7 - 8 %iger Formaldehydlösung fixiert, Transplantationstumoren legten wir sofort in Ringer-Lösung plus 5 % Glukose.

Wir teilten den Transplantationstumor in Stücke von etwa 1 mm Durchmesser, die wir in der oben angegebenen Lösung beließen. Anschließend entfernten wir bei dem Versuchstier im Bereich der rechten Seite auf einem $0,25 \text{ cm}^2$ großen Hautareal die Haare, desinfizierten mit Kodan^R, legten eine kleine Stichinzision an und schoben einen Trokar mit Mandrin subcutan bis in die Gegend der rechten Schulter vor. Wir implantierten etwa 3 Tumorstücke, die Stichinzision verschlossen wir mit Michelklammern. Bei ruhigen Tieren war dazu

keine Narkose notwendig, unruhige Tiere erhielten einen kurzen Ätherrausch.

Bei der intracerebralen Transplantation verwendeten wir ebenfalls Tumorstücke der oben angegebenen Größe. Die Versuchstiere wurden mit Nembutal^R narkotisiert, die Haare im Bereich des Schädeldaches entfernt und die Haut mit Kodan^R desinfiziert. Dann wurde ein medianer Längsschnitt von etwa 1,5 cm Länge angelegt. Die Kopfhaut spreizten wir, danach präparierten wir das Bindegewebe vom Knochen ab und sägten mittels eines Bohrers einen etwa 2 x 3 mm großen Knochendeckel rechts parietal über dem Implantationsgebiet aus. Die Dura wurde eröffnet und ein Trokar mit verstellbarem Tiefenanschlag in das Gehirn eingeführt. Wir hielten eine Implantations-tiefe von 3 - 4 mm ein. Nach der Implantation wurde der Knochendeckel wieder aufgelegt und die Wunde mit Michelklammern verschlossen.

Für die histologische Untersuchung⁺⁾ wurden folgende Färbungen angewandt: Kresylviolett, Van Gieson, Hämatoxylin-Eosin sowie für besondere Fragestellungen die Gömöri-Färbung.

+) Für die Begutachtung der Präparate schulden wir Prof. Schmidt, Pathologisches Institut der Universität Erlangen-Nürnberg, großen Dank.

IV Ergebnisse

1. Erzeugung von Tumoren der Ratte durch einmalige subcutane Injektion von Äthylnitrosoharnstoff

Diese Versuchsserie umfaßt 10 junge BD IX-Ratten. Sie entstammten alle demselben Wurf und erhielten am 6. 4. 1973 im Alter von 8 Tagen eine einmalige subcutane Injektion von 80 mg/kg Körpergewicht Äthylnitrosoharnstoff. Die Tiere wogen zum Zeitpunkt der Injektion zwischen 10 und 12 Gramm. Die Injektionsmenge lag zwischen 0,10 und 0,12 ml. Bei Tieren dieses Alters ist die Injektion nur subcutan möglich, die Dosis wurde gut vertragen.

Sämtliche 10 Tiere wurden zwischen dem 145. und 327. Tag nach Versuchsbeginn seziert. Der Mittelwert betrug 256 Tage. Zum Zeitpunkt der Sektion bestanden jeweils massive Tumorsymptome, der Zustand der Tiere war praefinal. Das Vorgehen bei der Sektion richtete sich nach den Symptomen, die auf den Sitz des Tumors hinwiesen. Es wurde darauf verzichtet, durch eine vollständige Sektion möglicherweise zusätzlich entstandene kleinere Tumoren und Mikrotumoren zu erfassen. Die Lokalisation der Tumoren sowie die histologische Diagnose sind in Tabelle I zusammengefaßt.

Es fanden sich bei 10 Ratten insgesamt 12 Tumoren (ohne die Lymphangiosis sarcomatosa bei Tier Nr. 505, bei der es sich möglicherweise um ein metastatisches Geschehen handelte).

Im ZNS war ein Tumor, ein Ependymom, lokalisiert. Eine sichere Beziehung zu den Hirnnerven wies nur ein Tumor (Ratte Nr. 506) auf. Dem peripheren Nervensystem konnten zwei Tumoren zugeordnet werden, nämlich die Tumoren von Ratte Nr. 505 und ein Tumor von Ratte Nr. 502. Bei zwei Tumoren - Ratte Nr. 503 und Nr. 504 -

konnte vom makroskopischen Befund her nicht sicher entschieden werden, ob Hirnnerven oder Strukturen der Schädelbasis die Matrix der Geschwülste gebildet hatten. Bei den Tumoren beider Tiere handelte es sich um Fibrosarkome, wobei derjenige von Nr. 503 meningeomartige Strukturen aufwies.

Intestinale Tumoren hatten die Ratten Nr. 509 und 510. Nierentumoren fanden wir bei zwei Tieren, nämlich bei den Ratten Nr. 501 und Nr. 502.

Mit dem M. iliopsoas waren zwei Tumoren (Ratte Nr. 508) verbakken. Bei ihnen konnte der Ausgangspunkt makroskopisch nicht festgestellt werden.

Tabelle I

Ratte Nr.	Tod nach Ver- suchsbeginn am	Tumoren	
		Lokalisation	Histologische Diagnose
503	145. Tag	Kleinhirnbrücken- winkel links	Fibrosarkom mit me- ningeomartigen Struk- turen
505	198. Tag	Plexus sacralis links	Sarkom der Nerven- scheide
504	229. Tag	Schädelbasis links	Fibrosarkom
507	234. Tag	Rautengrube	Ependymom
510	244. Tag	Abdomen (Darm)	Fibromyxosarkom
501	271. Tag	Niere	Fibromyxosarkom
508	277. Tag	M. iliopsoas (beid- seits der Wirbel- säule)	Fibromyxosarkome
502	309. Tag	Plexus lumbosacra- lis rechts und Niere	Fibromyxosarkome
506	322. Tag	N. trigeminus rechts	Kleinzelliges Rund- zellsarkom
509	327. Tag	Abdomen (Darm)	Fibromyxosarkom

Ratte Nr. 503

Am 29. 8. 73 fielen bei der Ratte Gleichgewichtsstörungen auf, die zunächst das einzige Symptom blieben. Am 3. 9. begann das Tier, zunehmend apathisch zu werden. Am 5. 9. wurde das Tier getötet und seziiert. Es fand sich ein ziemlich solider, gut abgegrenzter Tumor an der Schädelbasis im linken Kleinhirnbrückenwinkel. Die histologische Diagnose lautete: Fibrosarkom mit meningeomartigen Strukturen. Der Tumor wurde zur Transplantation verwendet.

Ratte Nr. 505

Am 21. 10. 73 fiel eine Monoparese des rechten Hinterbeines auf; der Allgemeinzustand des Tieres war zunächst noch gut, verschlechterte sich aber in den nächsten Tagen, so daß am 25. 10. die Sektion vorgenommen wurde. Es fand sich ein etwa pflaumenkerngroßer, weißlicher Tumor von derber Konsistenz, der zum linken Plexus sacralis Beziehung aufwies. Histologisch wurde der Tumor als ein von der Nervenscheide ausgehendes Sarkom diagnostiziert. Als Nebebefund fand sich in der Lunge eine Lymphangiosis sarcomatosa.

Ratte Nr. 504

Am 16. 11. 73 fiel bei diesem Tier ein starker Stridor auf, wobei sekretorische Erscheinungen im Sinne einer Rhinitis fehlten. Der Cornealreflex war links nicht auslösbar. Die Apathie nahm zu, so daß die Ratte nur noch teilnahmslos in ihrem Käfig lag. Am 21. 11. wurde die Sektion vorgenommen. Es fand sich im Bereich der linken Schädelbasis ein großer, intrakraniell, jedoch extracerebral gelegener, polyzyklisch begrenzter Tumor von braun-grauer Farbe und relativ fester Konsistenz. Die Sektion zeigte, daß der Stridor durch Einbruch des Tumors in die Nasenhöhle bedingt war. Der Tumor wurde zur

Transplantation verwendet. Die histologische Diagnose lautete Fibrosarkom.



Abb. 1 Schädelbasis von Ratte Nr. 504 mit polyzyklisch begrenztem Tumor. Feingeweblich Fibrosarkom. Vergrößerung: Etwa 3fach.

Ratte Nr. 507

Am 26. 11. 73 wurde dieses Tier seziert. Es wies zu diesem Zeitpunkt eine Parese der Hinterbeine auf, war apathisch, es bestand der Verdacht auf Blasenlähmung. Bei der Sektion fand sich ein Tumor in der Rautengrube. Die histologische Diagnose lautete Ependymom. Ein Rückenmarkstumor, an den aufgrund der Symptomatik gedacht wurde, konnte nicht festgestellt werden.

Ratte Nr. 510

Am 6. 12. 73 verstarb das Tier plötzlich in seinem Käfig. Es war vorher durch einen abdominellen Tumor aufgefallen. Bei der nach-

folgenden Sektion fand sich ein großer, intraabdomineller Tumor (Ausmaße 5 x 3 x 2 cm) von blauroter Farbe und weicher Konsistenz. Er war mit Dünn- und Dickdarm verbacken und ging offenbar von der Darmwand aus. Aufgrund des histologischen Untersuchungsbefundes wurde er als Fibromyxosarkom bezeichnet.

Ratte Nr. 501

Am 10. 1. 74 wurde die Ratte Nr. 501 seziert, die ebenfalls wegen einer abdominellen Schwellung auffiel. Bei der Eröffnung des Abdomens fand sich ein etwa pflaumengroßer Nierentumor - histologisch ein Fibromyxosarkom.

Ratte Nr. 508

Am 8. 1. 74 wurde die Ratte Nr. 508, die einige Tage vorher durch eine Parese des rechten Hinterbeines aufgefallen war, seziert. Es fanden sich zwei etwa kirschgroße, kugelige Tumoren beiderseits der Wirbelsäule, die mit dem jeweiligen M. iliopsoas verbacken waren. Die Tumoren hatten eine dunkelrot-bläuliche Farbe und pralle Konsistenz. Es wurde histologisch die Diagnose "Fibromyxosarkom mit hämangiomartigen Strukturen" gestellt.

Ratte Nr. 502

Am 9. 1. 74 wurde diese Ratte durch ihre Apathie und eine Parese des rechten Hinterbeines auffällig. Der Zustand verschlechterte sich langsam. Es entwickelte sich eine Paraparese und eine Blasen-Mastdarm-Lähmung. Am 9. 2. wurde das Tier seziert. Es fanden sich ein Tumor des rechten Plexus lumbosakralis sowie ein rechtsseitiger Nierentumor. Histologische Diagnose: Fibrosarkom und Fibromyxosarkom.

Ratte Nr. 506

Bei der Ratte wurde ein stark ausgeprägter Stridor sowie eine Aufhebung des Cornealreflexes rechts festgestellt. Die Symptome wiesen auf eine Geschwulst der Schädelbasis mit Einwachsen in die Nasenhöhle hin. Um die Frage des Ausgangspunktes besser klären zu können, wählten wir in diesem Fall eine spezielle Sektionsmethode. Am 22. 2. erfolgte die Sektion des Tieres mit Fixation des Gehirnes durch Perfusion mit 7 %iger Formaldehydlösung. Der Kopf wurde abgetrennt und zusätzlich in Formaldehydlösung fixiert. Am 7. 3. erfolgte die weitere Präparation. Es ließ sich jetzt an der Schädelbasis rechts ein zystischer Tumor darstellen, der eindeutig mit dem N. trigeminus in Verbindung stand. Es wurde die histologische Diagnose "kleinzelliges Rundzellensarkom" gestellt.

Ratte Nr. 509

Am 27. 2. 74 wurde dieses Tier, welches ebenfalls durch eine abdominelle Schwellung auffiel, seziert. Es fand sich ein Ileus, offenbar verursacht durch einen Tumor der Darmwand. Die Darmschlingen waren miteinander verbacken. Auch dieser Tumor wurde histologisch als Fibromyxosarkom bezeichnet.

2. Transplantation der erzeugten Tumoren

Es wurden zwei der mit Äthylnitrosoharnstoff erzeugten Tumoren transplantiert und zwar der Tumor von Ratte Nr. 503, histologische Diagnose: Fibrosarkom mit meningeomartigen Strukturen, sowie der Tumor von Ratte Nr. 504, histologische Diagnose: Fibrosarkom.

a) Subcutane Transplantationen

Tumor der Ratte Nr. 503 (Fibrosarkom mit meningeomartigen Strukturen)

1. Passage

Der Tumor wurde am 5. 9. 73 auf die Ratten Nr. 523 und 524 transplantiert. Die Transplantate gingen bei beiden Ratten an.



Abb. 2 Ratte Nr. 523: Entfernen des subcutan gewachsenen Transplantationstumors, etwa natürliche Größe.

2. Passage

Am 31. 10. 73, dem 56. Tag nach der Transplantation, wurde der Tumor, der jetzt Kirschgröße erreicht hatte, von dem Tier Nr. 523 auf die Tiere Nr. 511, 512 und 513 verimpft. Dabei wurde die Ratte Nr. 523 nicht getötet, sondern der Tumor wurde subtotal entfernt, um die Möglichkeit einer erneuten Transplantation von demselben Tumor zu haben, da über die Angehrate noch keine Erfahrungen vorlagen. Am 21. 11. 73 (77. Tag nach der Transplantation) wurden die Tiere Nr. 523 und 524 getötet.



Abb. 3 Ratte Nr. 513 mit subcutan transplantiertem Tumor im Bereich der rechten Schulter.

3. Passage

Der Tumor ging bei sämtlichen Tieren an. Das Tier Nr. 511 wurde am 4. 12. 73 (34 Tage nach der Transplantation) getötet, weil der Tumor exulcerierte.

Bei dem Tier Nr. 513 wurde der Tumor am gleichen Tage wieder

subtotal reseziert und auf die Ratten Nr. 526 und 531 transplantiert. Der Tumor wuchs sehr rasch und erreichte eine Größe von 4 x 4 x 2 cm, als das Tier am 21. 12. 73 (51. Tag nach der Transplantation) getötet wurde. Das Tier Nr. 512 wurde am 28. 12. 73 (58. Tag nach der Transplantation) getötet (Tumorgröße zu diesem Zeitpunkt: 5 x 3 x 2 cm).

4. Passage

Am 8. 1. 74 (35. Tag nach der Transplantation) wurde der Tumor von der Ratte Nr. 531 auf die Tiere Nr. 541 und Nr. 1201 transplantiert. Auf eine subtotale Resektion wurde verzichtet und das Tier getötet. Am 19. 1. 74 (46. Tag nach der Transplantation) wurde der Tumor von Ratte Nr. 526 auf die Tiere Nr. 543, 544, 545 und 546 transplantiert. Das Tier wurde am 9. 2. getötet.

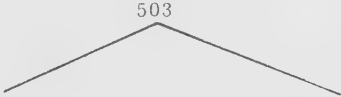
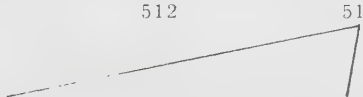
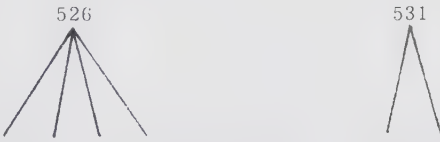
5. Passage

Am 9. 2. 74 (21. Tag nach der Transplantation) wurde der Tumor von der Ratte Nr. 544 auf die Tiere Nr. 549, 550 und 551 transplantiert. Mit dieser Generation wurde die subcutane Passage beendet, die Tiere wurden getötet, als die Tumoren ihren Allgemeinzustand zu sehr beeinträchtigten.

Tabelle II

Fibrosarkom mit meningeomartigen Strukturen

Subcutane Passagen

Passagen	Tiere Nr.	Dauer der Passagen
1. Passage		56 Tage
2. Passage		34 Tage
3. Passage		35 Tage Nr. 531
4. Passage		46 Tage Nr. 526 21 Tage
5. Passage		+))
		

+) Die letzte Passage wurde nicht durch eine erneute Transplantation beendet. Die Tiere wurden getötet, eine Zeitangabe wäre daher mißverständlich und wurde unterlassen.

Es zeigte sich, daß sich die Dauer der einzelnen Passagen zunehmend verkürzte. So dauerte die erste Passage 56 Tage, die vierte Passage dagegen nur 21 Tage. Die Angehrate betrug 100 %. Histologisch wurden die Tumoren der 1., 2. und 5. Passage untersucht (Tiere Nr. 523, Nr. 513 und Nr. 551). Die Tumoren zeigten ein knotiges Wachstum mit Kapselbildung von seiten des subcutanen Bindegewebes. Nur bei großen Geschwülsten bildeten sich zentrale Nekrosen. Noch seltener kamen Exulcerationen vor. Ihr Bild behielten die Tumoren im wesentlichen bei, jedoch nahm die Faserbildung immer mehr ab. Die Diagnose lautete immer "Fibrosarkom".

Tumor der Ratte Nr. 504 (Fibrosarkom)

Am 21. 11. 73 wurde im Anschluß an die Präparation der Tumor subcutan auf die Ratten Nr. 529 und 530 transplantiert. Die Tumoren gingen bei beiden Tieren an, es wurde aber nicht auf weitere Tiere transplantiert, da wir uns entschlossen hatten, den Tumor der Ratte Nr. 503 für weitere Versuche zu benützen, zumal kein wesentlicher Unterschied in der Histologie (von Nr. 503 und 504) bestand. Am 28. 11. 73 wurden beide Tiere getötet. Der Tumor der Ratte Nr. 530 war etwa 5 cm lang, zylinderförmig und hatte etwa 2 cm Durchmesser. Makroskopisch zeigte er ein weißlich glasiges Gewebe, das von Blutungen und Nekrosen teilweise durchsetzt war. Histologisch zeigte er dasselbe Bild wie der Ausgangstumor.

Tabelle III

Fibrosarkom

Subcutane Transplantation

Passagen	Tiere Nr.
1. Passage	504 / \ 529 530

b) Intracerebrale Transplantation

1. Passage

Am 5. 9. 73 erfolgte die Transplantation von Ratte Nr. 503 auf das Tier Nr. 525.

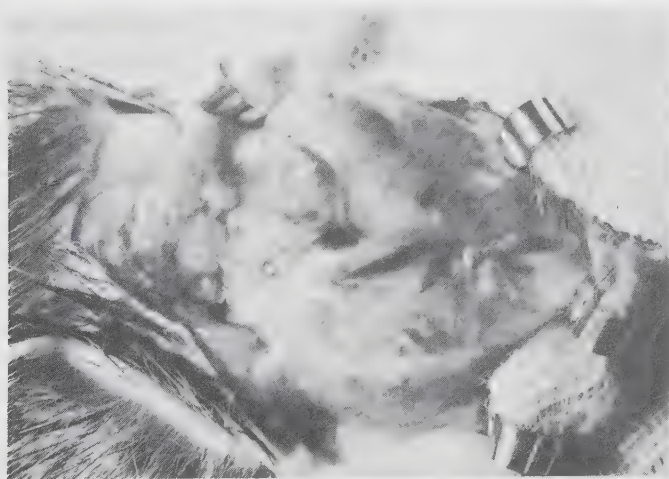


Abb. 4 Ratte Nr. 525: Intracerebral transplantiertes Fibrosarkom (extrakraniell gewachsener Tumoranteil durch Abpräparieren der Kopfhaut dargestellt). Vergrößerung: Etwa 3fach.



Abb. 5 Sektionspräparat der Ratte Nr. 525: Vergrößerung der linken Großhirnhemisphäre und Verlagerung der Fissura interhemispherica. Vergrößerung: Etwa 3fach.

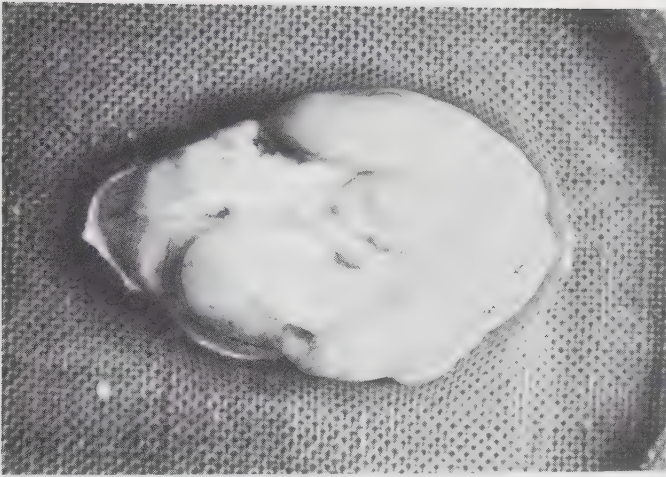


Abb. 6 Sektionspräparat Ratte Nr. 525: Basales Tumorwachstum links. Vergrößerung: Etwa 3fach.

2. Passage

Am 5. 12. 73 (61. Tag nach der Transplantation) wurde von der Ratte Nr. 525 auf die Tiere Nr. 532 und 542 transplantiert. Die Ratte Nr. 525 fiel schon zwei Wochen vor der Transplantation durch eine etwa erbsgroße Vorwölbung links parietal auf, sie hielt den Kopf schräg und war apathisch. Der Tumor war zur Knochenlücke herausgewachsen und hatte die Kopfhaut infiltriert.

3. Passage

Am 19. 1. 74 (45. Tag nach der Transplantation) wurde der Tumor von der Ratte Nr. 532 auf die Tiere Nr. 535 und 536 weitertransplantiert.

4. Passage

Am 16. 2. 74 (nach einer Wachstumszeit von 28 Tagen) wurde der

Tumor von dem Tier Nr. 536 auf die Tiere Nr. 533 und 537 transplantiert.

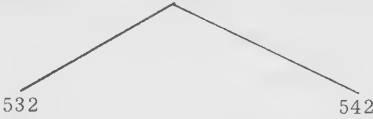
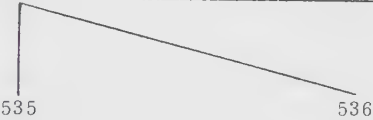
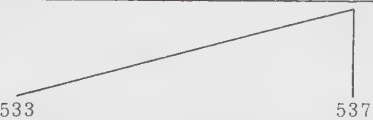
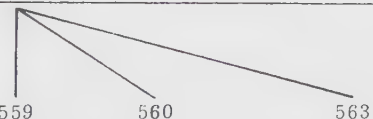
5. Passage

Am 17. 3. 74 (29. Tag nach der Transplantation) wurde von dem Tier Nr. 533 auf die Ratten Nr. 560, 559 und 563 transplantiert.

Auch die intracerebralen Transplantationen wurden nach der 5. Passage beendet.

Tabelle IV

Fibrosarkom mit meningeomartigen Strukturen
Intracerebrale Passagen

Passagen	Tiere Nr.	Dauer der Passagen
1. Passage	 503 525	61 Tage
2. Passage	 532 542	45 Tage
3. Passage	 535 536	28 Tage
4. Passage	 533 537	29 Tage
5. Passage	 559 560 563	+)

+) Die fünfte Passage wurde nicht durch eine erneute Transplantation beendet. Die Tiere wurden getötet, eine Zeitangabe wäre daher mißverständlich und wurde unterlassen.

Die intracerebralen Transplantationstumoren wuchsen von der Implantationswunde aus überwiegend nach extrakraniell. Teilweise breiteten sie sich haubenförmig zwischen der Schädelkalotte und dem Gehirn aus. In das Hirngewebe hinein wuchsen sie fast nur entlang von einstrahlenden Gefäßen, dabei meist auf den Virchow-Robinschen Raum beschränkt. Vereinzelt wuchsen sie auch infiltrierend.

Feingeweblich wurden die Tumoren der Ratten Nr. 525, 532, 536, 533 und 559 untersucht. Dies entspricht einem Tumor von jeder Passage. Alle Tumoren waren Fibrosarkome mit zunehmend geringer werdenden Silberfaserbildung.

In der 5. Passage (Nr. 559) war eine Silberfaserbildung kaum noch nachzuweisen. Die Dauer der einzelnen Passagen nahm, wie auch bei den subcutanen Transplantationen, ab. Dauerte die erste Passage noch 61 Tage, so vergingen bei der vierten Passage nur 29 Tage bis zur erneuten Transplantation.

c) Sekundär intracerebrale Transplantationen

Um etwaige Veränderungen des histologischen Bildes in Abhängigkeit von der Transplantationsart noch besser untersuchen zu können, gingen wir von zunächst subcutan transplantierten Tumoren auf eine intracerebrale Transplantation über.

Die beiden subcutanen Passagen sind im Abschnitt "Subcutane Transplantationen" beschrieben. Ausgehend vom Tier Nr. 513 transplantierten wir dann weiter.

3. Passage

Am 4. 12. 73 (24 Tage nach der Transplantation) wurde auf die Tiere Nr. 527 und 528 intracerebral transplantiert. Die Tumoren wuchsen bei beiden Tieren an.

4. Passage

Am 8. 1. 74 (35 Tage nach der Transplantation) wurde von dem Tier Nr. 527 auf die Tiere Nr. 1202 und 1203 transplantiert. Der Tumor war bei der Ratte Nr. 527 sehr stark nach extrakraniell gewachsen und stand über einen dünnen Stiel mit dem intrakraniellen Anteil in Verbindung.

5. Passage

Am 9. 2. 74 (32 Tage nach der Transplantation) wurde von der Ratte Nr. 1203 auf die Tiere Nr. 539 und 541 transplantiert. Nr. 541 trug von einer subcutan erfolgten Transplantation (8. 1. 74) noch einen kleinkirsch-großen Tumor im Bereich der rechten Schulter. Auch bei diesen Tieren ging der Tumor an. Sie wurden am 5. 3. 74 getötet. Diese Transplantationsserie wurde nach dem Erreichen der fünften Passage ebenfalls beendet.

Tabelle V

Fibrosarkom mit meningeomartigen Strukturen

Sekundär intracerebrale Transplantationen

Passagen	Tiere Nr.	Dauer der Passagen
1. Passage	<pre> 503 / \ 523 524 </pre>	
2. Passage	<pre> 511 / \ 512 513 </pre>	34 Tage
3. Passage	<pre> 527 ----- 528 </pre>	35 Tage
4. Passage	<pre> 1202 ----- 1203 </pre>	32 Tage
5. Passage	<pre> 539 ----- 541 </pre>	+))

-----: Intracerebral

_____: Subcutan

+) Die letzte Passage wurde nicht durch eine erneute Transplantation beendet. Die Tiere wurden getötet, eine Zeitangabe wäre daher mißverständlich und wurde unterlassen.

Auch diese Tumoren wuchsen in den intracerebralen Passagen vorwiegend nach extrakraniell. Auch sie zeigten ein Wachstum in das Hirngewebe hinein nur entlang von Gefäßen bzw. ortsständigen, mesenchymalen Strukturen.

Histologisch wurden sie ebenfalls als Fibrosarkome mit abnehmender Silberfaserbildung charakterisiert.

Es wurden die Tumoren der Tiere Nr. 527, 1203 und 533 feingeweblich untersucht.

d) Zusammenfassung der Befunde bei den Transplantationsversuchen

Bei sämtlichen Transplantationsversuchen konnte eine Angehrate von 100 % erreicht werden. Die Dauer der einzelnen Passagen verkürzte sich, d. h. die Wachstumsgeschwindigkeit nahm zu und zwar sowohl bei den intracerebralen als auch bei den subcutanen Passagen. Das histologische Bild blieb weitgehend stabil, allerdings konnte mit der Gömöri-Färbung gezeigt werden, daß die Silberfaserbildung im Verlauf der Transplantationen abnahm. Die intracerebralen Transplantate zeigten eine geringe Neigung zur Ventrikelausbreitung und wuchsen häufig extracerebral, nicht selten sogar aus dem Knochendefekt der Implantation nach extrakraniell. Zwischen der primär und sekundär intracerebralen Transplantation zeigten sich hinsichtlich der histologischen Befunde keine Unterschiede.

DISKUSSION

I Diskussion der Versuche zur Erzeugung von Tumoren

Auch unsere Versuche haben gezeigt, daß es durch die Applikation von ÄNH an jungen Ratten sicher möglich ist, Tumoren zu erzeugen. In dieser Hinsicht werden die Ergebnisse anderer Untersucher, insbesondere von Druckrey und Mitarb. (1970) bestätigt. Auch in bezug auf die Latenzzeiten, die bis zum Auftreten der Tumoren verstrichen, läßt sich eine gute Übereinstimmung feststellen. Es ergab sich bei uns eine durchschnittliche Latenzzeit von 256 Tagen, wobei die Zeitspanne zwischen Injektion und Sektion berechnet wurde. Die Sektion wurde durchgeführt, wenn die Tiere aufgrund von intrakraniellen Tumoren oder bei abdominellen Tumoren aufgrund von fortgeschrittener Kachexie moribund erschienen. Die oben genannten Autoren gaben für eine fast identische Versuchsanordnung (Injektion von ÄNH bei 10 Tage alten Ratten in einer Dosis von 80 mg/kg) eine durchschnittliche Latenzzeit von 215 Tagen an.

Zur Frage des Tumorspektrums der erzeugten Tumoren läßt sich feststellen:

Bei einem Tier, nämlich der Ratte Nr. 507 mit dem Ependymom in der Rautengrube, ergibt sich der neurogene Ursprung eindeutig sowohl aus dem histologischen Bild als auch aus der topographischen Beziehung. Bei den sarkomatösen Geschwülsten - sehen wir von den Nierentumoren ab - wurde der neurogene Ursprung durch die Sektion nachgewiesen oder wahrscheinlich gemacht. Bei den neurogenen Sarkomen handelt es sich um maligne Nervenscheidentumoren (Mennel und Zülch, 1971), die beim Menschen selten sind. Sie werden auch als "maligne Neurinome" bezeichnet (Kramer).

Für manche Autoren sind allerdings die Termini nicht synonym: Foot (1949) unterscheidet das "maligne Neurinom" vom "neurogenen Sar-

kom" und glaubt, diese Geschwülste mit Hilfe der Trichrommethoden unterscheiden zu können. Güthert und Mitarb. (1968) sind der Ansicht, daß neurogene Sarkome vielfach so entdifferenziert sind, daß sie von anderen Sarkomen feingeweblich nicht mehr unterschieden werden können, und daß ihr Ursprung "nur durch die makroskopische Beziehung zu den Nerven oder Nervenwurzeln bestimmt" wird. Der Meinung dieser Autoren möchten wir uns aufgrund unserer experimentellen Ergebnisse anschließen. Bei 3 Tieren (Nr. 502, 505, 506) konnte durch die Sektion eine Beziehung zum Nervensystem eindeutig nachgewiesen werden, wenn auch die histologische Zuordnung aus den oben genannten Gründen nicht möglich war. Es handelte sich zweimal um einen Tumor des Plexus lumbosacralis und einmal um einen Tumor des N. trigeminus.

Bei 5 Tieren (Nr. 503, 504, 508, 509, 510) erscheint der neurogene Ursprung aufgrund der Lokalisation wahrscheinlich. Die Tumoren von Nr. 503 und Nr. 504 waren an der Schädelbasis, und zwar im Kleinhirnbrückenwinkel, lokalisiert. Wahrscheinlich handelt es sich bei ihnen (wie bei dem Tumor von Ratte Nr. 506) um maligne Neurinome des N. trigeminus.

Bei der Ratte Nr. 504 wies das Fehlen des Cornealreflexes auf eine Beeinträchtigung des N. trigeminus links hin, wenn auch dieses Symptom nicht beweisend für die Provenienz des Tumors ist. Die Geschwulst von Ratte Nr. 503 möchten wir trotz der meningeomartigen Strukturen, die übrigens bei den Transplantationstumoren nicht mehr nachweisbar waren, nicht als Meningeom, sondern ebenfalls als malignes Neurinom einordnen. Sowohl in dem großen Versuchsgut von Zülch und Mennel (1971) als auch bei den Versuchen von Jänisch und Schreiber (1969) wurden meningeale Tumoren nur ausnahmsweise beobachtet, die beiden von Jänisch und Schreiber beschriebenen Meningeome wurden zufällig bei der mikroskopischen Untersuchung festgestellt; sie waren nur stecknadelkopfgroß und nach Ansicht

der Autoren eventuell spontan aufgetreten. Das Malignom der Ratte Nr. 508, histologisch als Fibromyxosarkom diagnostiziert, lag im Bereich des M. iliopsoas beiderseits und ist bezüglich des Ursprungs wahrscheinlich dem Plexus lumbosacralis zuzuordnen.

Die Tumoren von Nr. 509 und 510 gingen von der Darmwand aus. Über das gelegentliche Vorkommen von neurogenen Tumoren des Darmes bei Versuchen mit ÄNH an Ratten berichten Druckrey und Mitarb. (1970).

Sehr wahrscheinlich nicht vom Nervensystem abzuleiten sind die Nierentumoren von Ratte Nr. 501 und Nr. 502. Das Vorkommen von Nierentumoren bei Versuchen mit ÄNH an Ratten ist dosisabhängig und bei hohen Dosen (wie 80 mg/kg) recht häufig. Druckrey und Mitarb. (1970) beobachteten bei einer Versuchsserie von 296 Tieren 27 derartige Geschwülste, die sie als Nephroblastome bezeichneten.

Bei der Lymphangiosis sarcomatosa der Ratte Nr. 505 stellt sich die Frage, ob hier ein metastatisches Geschehen vorliegt. Der Primärtumor wäre dann der Tumor des linken Plexus sacralis, der histologisch als ein von der Nervenscheide ausgehendes Sarkom bezeichnet wurde. Wir möchten die Frage der Metastasierung bejahen. Unsere Beobachtungen sind um so interessanter, als über eine Metastasierung der mit alkylierenden Substanzen erzeugten Tumoren nur sehr selten berichtet wurde. Bei den Tumoren des ZNS wird eine Metastasierung auf dem Liquorwege angenommen, wobei eine Unterscheidung von multizentrisch entstandenen Tumoren aber schwierig ist (Jänisch und Schreiber, 1969). Bei Adenokarzinomen des Kolons ist eine peritoneale Aussaat beobachtet worden (Kupfer und Kupfer, 1971).

II Diskussion der Transplantationsversuche

Bei den Transplantationsversuchen konnte eine Angehrate von 100 % erreicht werden. Bei entsprechender Wahl der Versuchsbedingungen (vor allem bei Isotransplantation) sind die Angehraten recht hoch, was auch bei Versuchen mit Gliomen beobachtet wurde (Zimmermann und Arnold, 1941; Ishida und Mitarb., 1963; Perese und Moore, 1960). Ridley und Mitarb. (1973) transplantierten durch ÄNH induzierte Schwannome sowohl intracerebral als auch subcutan, sie konnten Angehraten von bis zu 70 % erreichen.

Bei fortlaufender Transplantation trat häufig ein Wechsel im histologischen Bild auf, in dem Sinne, daß z. B. Glioblastome häufig eine sarkomatöse Umwandlung zeigten (Perese und Moore, 1960). Allerdings gelang es auch, Rattengliome bei fortlaufender intracerebraler Transplantation in ihrer ursprünglichen histologischen Eigenart zu erhalten (Waldbaur und Mitarb., 1974 und 1975).

Es war nun auch von Interesse, wie sich sarkomatöse Geschwülste, die im Bereich des Nervensystems entstanden waren, bei Transplantationen verhalten, insbesondere ob sie ihre histologische Struktur ändern und ob sich in dieser Hinsicht Unterschiede bei subcutaner und bei intracerebraler Transplantation einstellen.

Es zeigte sich, daß das histologische Bild unabhängig von der Transplantationsart im wesentlichen stabil blieb, wodurch sich diese Tumoren als Modell für menschliche Hirntumoren auszeichnen und für weitere Untersuchungen geeignet erscheinen lassen.

ZUSAMMENFASSUNG

Zehn BD IX-Ratten erhielten im Alter von 8 Tagen eine einmalige subcutane Injektion von Äthylnitrosoharnstoff (80 mg/kg Körpergewicht). Durch dieses Vorgehen konnten bei allen Tieren Tumoren erzeugt werden. Tumorzeichen, zum Teil neurologische Ausfälle, traten zwischen dem 138. und dem 327. Tag nach der Injektion auf. Die Ratten wurden seziert, die Tumoren präpariert und histologisch untersucht. Bei den Geschwülsten handelte es sich vorwiegend um Tumoren des Nervensystems, die überwiegend von Nervenscheiden im Bereich des N. trigeminus oder Plexus lumbosacralis ausgingen. Im einzelnen wurde bei einem Tier ein Ependymom gefunden, bei neun Tieren handelte es sich um sarkomatöse Tumoren im Sinne von neurogenen Sarkomen oder Nephroblastomen.

Zwei der neurogenen Sarkome wurden auf Ratten desselben Stammes transplantiert. Bei den Transplantationen handelte es sich um subcutane, intracerebrale und subcutan-intracerebrale Passagen. Bei diesen Versuchen konnte eine Angehrate von 100 % erzielt werden. Die Wachstumsgeschwindigkeit der Transplantate nahm bei allen Transplantationsformen zu. Das histologische Bild der Transplantationstumoren blieb hingegen weitgehend stabil, es zeigte sich, daß die Silberfaserbildung abnahm.

Daraus läßt sich schließen, daß durch die Erzeugung und Transplantation von Tumoren des zentralen und peripheren Nervensystems geeignete Modelle für menschliche Tumoren gewonnen werden können. Dies wurde in der vorliegenden Arbeit am Beispiel eines neurogenen Sarkoms gezeigt.

LITERATURVERZEICHNIS

- ALEXANDROV, V. A.: Uterine, Vaginal and Mammary Tumors induced by Nitrosoureas in Pregnant Rats. *Nature (Lond.)* 222: 1064 - 1065, 1969.
- AUSMAN, J. I.; W. R. SHAPIRO und D. P. RALL: Studies on the Chemotherapy of Experimental Brain Tumors: Development of an Experimental Model. *Cancer Research* 30: 2394 - 2400, 1970.
- BENDA, P.; K. SOMEDA; J. MESSER und W. H. SWEET: Morphological and immunochemical studies of rat glial tumors and clonal strains propagated in culture. *J. Neurosurg.* 34: 310 - 323, 1971.
- CAPUTO, A. und B. GIOVANELLA: Produzione sperimentale di tumori cerebrali nel ratto. *Arch. ital. anat. istol. path.* 29: 467 - 497, 1955.
- DIMANT, H. M.; G. M. LOKTIONOV und M. M. SATAEV: Die Induktion von Geschwülsten der Rückenmarkshäute bei Kaninchen. *Vop. Onkol.* 11/5: 46 - 53, 1965.
- DRUCKREY, H.: Selective Induction of malignant Tumors. In: KIRSCH, W. M., E. GROSSI-PAOLETTI, P. PAOLETTI (ed.): *The Experimental Biology of Brain Tumors*. Springfield (Illinois) USA C. C. Thomas, 1972.
- DRUCKREY, H.; S. IVANKOVIC und R. PREUSSMANN: Teratogenic and Carcinogenic Effects in the Offspring after single Injection of Ethylnitrosourea to Pregnant Rats. *Nature (Lond.)* 210: 1378 - 1379, 1966.
- DRUCKREY, H.; S. IVANKOVIC, R. PREUSSMANN: Selektive Erzeugung maligner Tumoren im Gehirn und Rückenmark von Ratten durch N-Methyl-N-nitrosoharnstoff. *Z. Krebsforsch.* 66: 389 - 408, 1965.

- DRUCKREY, H. ; CH. LANDSCHÜTZ und S. IVANKOVIC: Transplacentare Erzeugung maligner Tumoren des Nervensystems. Z. Krebsforsch. 73: 371 - 386, 1970.
- DRUCKREY, H. und R. PREUSSMANN: Selektive Erzeugung von Hirntumoren bei Ratten durch Methylnitrosoharnstoff. Naturwissenschaften 51: 144, 1964.
- DRUCKREY, H. ; R. PREUSSMANN; J. AFKHAM und G. BLUM: Erzeugung von Lungenkrebs durch Methylnitrosourethan bei intravenöser Gabe an Ratten. Naturwissenschaften 49: 451 - 452, 1962.
- DRUCKREY, H. ; R. PREUSSMANN; S. IVANKOVIC; D. SCHMÄHL: Organotrope carcinogene Wirkungen bei 65 verschiedenen N-Nitroso-Verbindungen an BD IX-Ratten. Z. Krebsforsch. 69: 103 - 201, 1967.
- DRUCKREY, H. ; B. SCHAGEN und S. IVANKOVIC: Erzeugung neurogener Malignome durch einmalige Gabe von Äthyl-nitrosoharnstoff (ÄNH) an neugeborenen und jungen BD IX-Ratten. Z. Krebsforsch. 74: 141 - 161, 1970.
- DRUCKREY, H. ; D. STEINHOFF; R. PREUSSMANN und S. IVANKOVIC: Erzeugung von Krebs durch eine einmalige Dosis von Methylnitroso-Harnstoff und verschiedenen Dialkylnitrosaminen an Ratten. Z. Krebsforsch. 66: 1 - 10, 1964.
- FOOT, N. C.: The pathology of tumours of the peripheral nerves. Advanc. Surg. 2: 385, 1949. Zit. n. MENNEL und ZÜLCH, 1971.
- GLOBUS, J. H. und H. KUHLENBECK: The Subependymal Cell Plate (Matrix) and its Relationship to Brain Tumors of the Ependymal Type. J. Neuropath. Exp. Neurol. 3: 1 - 35, 1944.
- GREENE, H. S. N.: The Transplantation of Human Brain Tumors to the Brains of Laboratory Animals. Cancer Res. 13: 422 - 426, 1953.

- GUÉRIN, M. : Tumeurs spontanées des animaux de laboratoire (souris, rat, poule). Legrand, Paris, 1954.
- GÜTHERT, H. ; D. SCHREIBER, W. JÄNISCH und R. WARZOK: Experimentelle Nerventumoren bei Ratten durch Induktion mit N-Methyl-N-nitrosoharnstoff. Exp. Path. 2: 370 - 380, 1968.
- HUEBNER, R. J. ; P. R. WALLACE und W. T. LANE: Oncogenic Effects in Hamsters of Human Adenovirus Types 12 and 18. Proc. nat. Acad. sci. (Wash.) 48: 2051 - 2058, 1962.
- ISHIDA, Y. ; S. KAWAI; K. SATO und H. NIIBE: Experimental Induction of Gliogenous Tumors in Rats. Gunma J. Med. Sci. 12: 36 - 72, 1963.
- IVANKOVIC, S. und H. DRUCKREY: Transplazentare Erzeugung maligner Tumoren des Nervensystems. Z. Krebsforsch. 71: 320 - 360, 1968.
- IVANKOVIC, S. ; H. DRUCKREY und R. PREUSSMANN: Erzeugung von Tumoren im peripheren und zentralen Nervensystem durch Trimethyl-nitroso-harnstoff an Ratten. Z. Krebsforsch. 66: 541 - 548, 1965.
- IVNAKOVIC, S. ; H. DRUCKREY und R. PREUSSMANN: Erzeugung neurogener Tumoren bei den Nachkommen nach einmaliger Injektion von Äthylnitrosoharnstoff an schwangeren Ratten. Naturwissenschaften 53: 410, 1966.
- JABLONOVSKAJA, L. JA. : Experimentelle Hirngeschwülste durch die Methode der Heterotransplantation und Induktion. Medicina, Leningrad, 1967.
- JÄNISCH, W. und D. SCHREIBER: Experimentelle Hirngeschwülste bei Kaninchen nach Injektion von Methylnitrosoharnstoff. Naturwissenschaften 54: 171, 1967.
- JÄNISCH, W. und D. SCHREIBER: Experimentelle Geschwülste des Zentralnervensystems. Fischer Verlag Jena, 1969.

- JÄNISCH, W.; D. SCHREIBER; R. STENGEL und V. STEFFEN: Die Induktion von experimentellen Hirngeschwülsten bei Ratten mit Methylnitrosoharnstoff. *Exp. Path.* 1: 243 - 255, 1967.
- JÄNISCH, W.; D. SCHREIBER; R. WARZOK und J. SCHNEIDER: Die transplazentare Induktion von Geschwülsten des Nervensystems. *Arch. Geschwulstforsch.* 39/2: 99 - 106, 1972.
- JENTZER, A.: Premiers résultats d'application expérimentale de cobalt 60 dans le lobe frontal du lapin. *Confin. neurol. (Basel)* 19: 264 - 269, 1959
- KIRSCH, W. M.: Histochemical and quantitative analysis of alkaline phosphatase during the course of experimental intracranial neoplasia. *Surg. Forum* 12: 394 - 396, 1961.
- KIRSCH, W. M.; E. GROSSI-PAOLETTI, P. PAOLETTI (ed.): The Experimental Biology of Brain Tumors. Springfield (Illinois) USA C. C. Thomas, 1972.
- KLEIHUES, P.; S. MATSUMOTO; W. WECHSLER und K. J. ZÜLCH: Morphologie und Wachstum der mit Äthylnitrosoharnstoff transplazentar erzeugten Tumoren des Nervensystems. *Deutsch. Ges. Path.* 52: 372 - 380, 1968.
- KRAMER, W.: Tumors of Nerves. Handbook of Clinical Neurology Vol. 19; Holland Publishing Company. Zit. n. MENNEL und ZÜLCH, 1971.
- KUPFER, G. und M. KUPFER: Über verschiedene Wirkungen von N-Methyl-N-nitrosoharnstoff bei Ratten. *Zbl. allgem. Path.* 114: 447 - 457, 1971.
- LEE, J. C.: Direct transplantation of intracranial tumors. *Anat. Rec.* 160: 481, 1968.
- LEE, J. C.: Persönliche Mitteilungen. 1973.
- MAGEE, P. N. und M. BARNES: Carcinogenic N-Nitroso Compounds. *Adv. Cancer. Res.* 10: 164, 1967.

- MENNEL, H. D. und K. J. ZÜLCH: Die Morphologie maligner Tumoren der peripheren Nerven. *Zbl. Neurochir.* 32: 11 - 24, 1971.
- MULLIGAN, R. M.; K. T. NEUBUERGER; J. T. LUCAS und W. B. LEWIS: Intracranial Neoplasms Produced in Dogs by Methylcholanthrene. *Exp. Med. Surg.* 4: 7 - 19, 1946.
- NETSKY, M. G.: Experimental Induction and Transplantation of Brain Tumors in Animals. *Acta Neurochir. Suppl.* X: 46 - 55, 1964.
- PERESE, D. M. and G. E. MOORE: Methods of Induction and Histogenesis of Experimental Brain Tumors. *J. Neurosurg.* 17: 677 - 699, 1960.
- RABOTTI, G. F.; R. L. SELLERS und W. R. ANDERSON: Leptomeningeal Sarcomata and Gliomata induced in Rabbits by Rous Sarcoma Virus. *Nature (Lond.)* 209: 524 - 526, 1966.
- RABOTTI, G. F.; A. S. GROVE; R. L. SELLERS und W. R. ANDERSON: Induction of multiple brain tumors (gliomata and leptomeningeal sarcomata) in dogs by Rous sarcoma virus. *Nature (Lond.)* 209: 884 - 886, 1966.
- RIDLEY, A.; PH. KENNEDY und S. RAINBIRD: Transplantation of Ethylnitrosourea - Induced Schwannomas in the Harvard Rat. *Acta Neuropath. (Berl.)* 26: 139 - 146, 1973.
- ROSNER, S.: Further Studies in the Chemotherapy of Carcinoma of the Brain. *J. int. Coll. Surg.* 34: 467 - 473, 1960.
- SCHAGEN, B.: Erzeugung von Krebs durch einmalige Dosis Äthylnitrosoharnstoff an neugeborenen BD-Ratten. *Mediz. Diss. Freiburg*, 1970.
- SCHIEFER, B.: Zur Morphologie experimenteller Hirntumoren. *Acta Neuropath. (Berl.) Suppl.* I: 19. - 25, 1962.

- SCHIEFER, B.: Morphology of Experimental Brain Tumors. Acta Neurochirurg. Suppl. X: 57 - 63, 1961.
- SCHMIDEK, H. H.; S. L. NIELSEN; A. L. SCHILLER und J. MESER: Morphological studies of rat brain tumors induced by N-nitrosomethylurea. J. Neurosurg. 34: 335 - 340, 1971.
- SCHMIDT, H.; G. KLEINECKE; D. M. GOLDENBERG: Über mesenchymale Abwehrreaktionen in Goldhamstergehirnen nach Transplantation menschlicher Gehirntumoren. Z. Krebsforsch. 71: 308 - 315, 1968.
- SCHREIBER, D. und W. JÄNISCH: Geschwülste bei Ratten nach wiederholter Applikation von N-Methyl-N-nitrosoharnstoff durch die Magensonde. Exp. Path. 1: 331 - 338, 1967.
- SELIGMAN, A. M. und M. J. SHEAR: Studies in carcinogenesis. 8. Experimental production of brain tumors in mice with methylcholanthrene. Amer. J. Cancer 37: 364 - 395, 1939.
- SHAPIRO, W. R.: The Effect of Chemotherapeutic Agents on the Incorporation of DNA Precursors by Experimental Brain Tumors. Cancer Res. 32: 2178 - 2185, 1972.
- SHAPIRO, W. R.; J. I. AUSMAN und D. P. RALL: Studies on the Chemotherapy of Experimental Brain Tumors: Evaluation of 1,3-Bis (2-chloroethyl)-1-nitrosourea, Cyclophosphamide, Mitomycin, and Methotrexate. Cancer Research 30: 2401 - 2413, 1970.
- SMART, L.: The Subependymal Layer of the Mouse Brain and its Cell Production as Shown by Radioautography after Thymidine- H^3 Injection. J. Comp. Neurol. 116: 325 - 338, 1961.
- STROOBANDT, G. und J. M. BRUCHER: Etude de tumeurs nerveuses obtenues par l'administration de méthylnitrosourée au rat. Neurochirurgie (Paris) 14: 515 - 535, 1968.

- SUGIURA, K.: Tumor transplantation. In: W. I. GAY (ed.): *Methods of Animal Experimentation* 2: 171 - 222, New York Acad. Press inc., 1969.
- TANSLEY, K. und W. C. WILSON: Irradiation of experimental cerebral tumours. *Radiology* 49: 62 - 71, 1947. Zit. n. JÄNISCH und SCHREIBER, 1969.
- THOMAS, C. und G. KERSTING: Zur Morphologie der durch Methyl-nitrosoharnstoff erzeugten Hirntumoren bei der Ratte. *Naturwissenschaften* 51: 144 - 145, 1964.
- THUST, R. und R. WARZOK: Comparative Studies on the in vitro and in vivo Morphology of Clones of Experimental CNS Tumours in the Rat. *Acta neuropath. (Berl.)* 20: 248 - 257, 1972.
- TOOLAN, H. W.: Transplantable Human Neoplasms Maintained in Cortisone-treated Laboratory Animals. *Cancer Res.* 14: 660 - 666, 1954.
- VAQUEZ LOPEZ, E.: On the growth of Rous sarcoma inoculated into the brain. *Amer. J. Cancer* 26: 29 - 55, 1936. Zit. n. JÄNISCH und SCHREIBER, 1969.
- VAQUEZ LOPEZ, E.: Glioma in a Rat Fed with 2-Acethyl-amino-fluorene. *Nature* 156: 296 - 297, 1945.
- WALDBAUR, H.; H. SCHMIDT und U. ENGELMANN: Transplantationsort und Morphologie chemisch induzierter Gliome der Ratte. *Naturwissenschaften* 61: 408, 1974.
- WALDBAUR, H.; H. SCHMIDT und U. ENGELMANN: Intracerebral transplantation of chemically induced gliomas in rats - A brain tumor model in animal experiment. *Advances in Neurosurgery* 2: 318 - 321, 1975.
- WARZOK, R.; J. SCHNEIDER; D. SCHREIBER und W. JÄNISCH: Experimental Brain Tumours in Dogs. *Experimentia* 26: 303 - 304, 1970.

- WECHSLER, W.; M. A. RAMADAN und A. GIESELER: Isogenic Transplantation of Ethylnitrosourea - Induced Tumors of the Central and Peripheral Nervous System in two Different Inbred Rat Strains. *Naturwissenschaften* 59: 474, 1972.
- ZIMMERMANN, H. M. und H. ARNOLD: Experimental Brain Tumors. *Cancer Res.* 1: 919 -924, 1941.
- ZÜLCH, K. J.: Die Hirngeschwülste in biologischer und morphologischer Darstellung. 2. Aufl. Leipzig, 1956.
- ZÜLCH, K. J.: Atlas of the Histology of Brain Tumors. Springer Berlin, Heidelberg, New York, 1971.
- ZÜLCH, K. J. und H. D. MENNEL: Die Morphologie der durch alkylierende Substanzen erzeugten Tumoren des Nervensystems. *Zb. Neurochir.* 32: 225 - 243, 1971.
- ZÜLCH, K. J. und W. WECHSLER: Pathology and Classification of Gliomas. *Progr. Neurol. Surg.* 2: 1 - 84, Karger (Basel), 1968.

LEBENSLAUF

Am 21. 2. 1949 wurde ich als Sohn des kaufmännischen Angestellten Horst Engelmann und seiner Ehefrau Marianne, geborene Kückler, in Schkeuditz/Kreis Merseburg geboren.

Im Jahre 1953 flüchteten meine Eltern mit mir in die Bundesrepublik. Ab 1956 besuchte ich in Hagen/Westfalen die Volksschule. 1959 wechselte ich auf das Albrecht Dürer-Gymnasium am selben Ort und legte 1968 am Alexander-von-Humboldt-Gymnasium in Konstanz die Reifeprüfung ab.

Im selben Jahr wurde ich zum Grundwehrdienst einberufen. Nach dessen Beendigung begann ich im Sommersemester 1970 das Studium der Medizin an der Friedrich-Alexander-Universität Erlangen-Nürnberg. Ich bestand den naturwissenschaftlichen Abschnitt der ärztlichen Vorprüfung nach dem Wintersemester 1970/71 und die ärztliche Vorprüfung nach dem Sommersemester 1972. Nach dem Sommersemester 1975 legte ich an derselben Universität das Medizinische Staatsexamen ab.

Am 17. 3. 1972 heiratete ich die Lehrerin Brigitte Wunsch.

Seit 1. 3. 76 arbeite ich als Medizinalassistent an der 4. Medizinischen Klinik der Krankenanstalten Nürnberg.

